

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

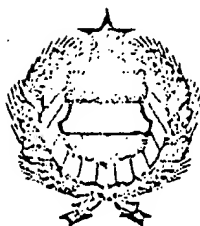
- BLACK BORDERS
  - TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
  - FADED TEXT
  - ILLEGIBLE TEXT
  - SKEWED/SLANTED IMAGES
  - COLORED PHOTOS
  - BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- 
- GRAY SCALE DOCUMENTS

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problem Mailbox.

(19) Országkód:

HU



MAGYAR  
KÖZTÁRSASÁG  
ORSZÁGOS  
TALÁLMÁNYI  
HIVATAL

# SZABADALMI LEÍRÁS

(11) Lajstromszám:

199877 B

(51) Int Cl<sup>3</sup>

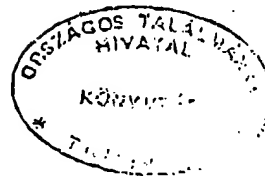
C 07 K 7/02  
A 61 K 37/64

(22) Bejelentés napja: 1988.05.19. (21) (2544/88)

(30) Bejelentés elsőbbsége: US 1987.05.21., 1988.02.01.  
(053,166, 151,060)

(40) Közzététel napja: 1989.01.30.

(45) Megadás meghirdetésének dátuma  
a Szabadalmi Közlönyben: 1990.03.28.



(72) Feltalálók:

Berman Judd M., Hassman, Chester F.,  
Cincinnati, Ohio, US, Pelton John T.,  
Strasbourg, FR, Buck Stephen H.,  
Cincinnati, Ohio, US

(73) Szabadalmaz:

Merrel Dow Pharmaceuticals Inc.,  
Cincinnati, Ohio, US

(54) Eljárás új ANF-származékok és ezeket tartalmazó gyógyszerkészítmények előállítására

(57) KIVONAT

A találmány tárgya szilárd fázisú szekvenciális vagy blokk eljárás új (1) általános képletű peptid előállítására.

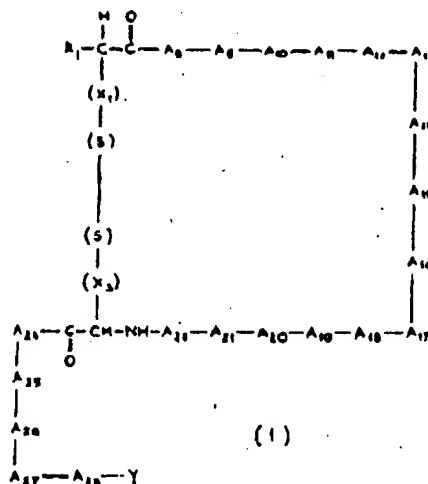
Az (1) általános képletben

R<sub>1</sub> H-Ser-Ser-NH-csoport,

X<sub>1</sub> és X<sub>3</sub> metilencsoport,

A<sub>8</sub> Phe, A<sub>9</sub> Gly, A<sub>10</sub> Gly, A<sub>11</sub> Arg, A<sub>12</sub> Ile, A<sub>13</sub> Asp, A<sub>14</sub> Arg, A<sub>15</sub> Ile, A<sub>16</sub> Gly, A<sub>17</sub> Ala, A<sub>18</sub> Gln, A<sub>19</sub> Ser, A<sub>20</sub> Gly, A<sub>21</sub> Leu, A<sub>22</sub> Gly, A<sub>24</sub> Asn, A<sub>25</sub> Ser, A<sub>26</sub> Phe, A<sub>27</sub> Arg, A<sub>28</sub> Tyr, Y-NH<sub>2</sub>, ahol az -A<sub>8</sub>-A<sub>9</sub>-A<sub>10</sub>-, -A<sub>15</sub>-A<sub>16</sub>-A<sub>17</sub>-, A<sub>16</sub>-A<sub>17</sub>-A<sub>18</sub>-, -A<sub>17</sub>-A<sub>18</sub>-A<sub>19</sub>-, -A<sub>20</sub>-A<sub>21</sub>-A<sub>22</sub>- vagy az -A<sub>24</sub>-A<sub>25</sub>-A<sub>26</sub>- csoport közül valamelyik, vagy az -A<sub>8</sub>-A<sub>9</sub>-A<sub>10</sub>-, -A<sub>17</sub>-A<sub>18</sub>-A<sub>19</sub>-, -A<sub>20</sub>-A<sub>21</sub>-A<sub>22</sub>-, -A<sub>24</sub>-A<sub>25</sub>-A<sub>26</sub>-csoportok egy kétvegyértékű (41) általános képletű csoporttal vannak helyettesítve, ahol Z jelentése 5-9 szénatomszámú alkilén-csoport.

A találmány szerinti eljárással előállított (1) általános képletű vegyületek kóros folyadék, elektrolit, magas vérnyomás, intraocularis nyomás, renin vagy aldosteron homeostasis következtében létrejött betegségek kezelésére alkalmas gyógyszerkészítmények hatóanyagaként felhasználhatók.



A találmány tárgya eljárás új (1) általános képletű ANF-peptidek előállítására.

A sejten kívüli folyadék természetes szabályozása állatokban komplex kapcsolatban van különféle hormonális és neurológiai funkciókkal. Az utóbbi időben felfedezték, hogy a szívritvar által termelt polipeptid hormon fontos szerepet játszik a test nátrium, víz és vérnyomás homeosztatikus szabályozásában. Ez a polipeptid hormon az atrialis nátrium uretikus faktor (ANF), de mint cardionatrin és atriopentin ismert. A továbbiakban az egyszerűség kedvéért ezt az anyagot ANF névvel jelöljük.

Az ANF peptidek családját izolálták és meghatározták aminosav szekvenciájukat. Ezek az ANF peptidek, amint ezt kimutatták, 21–216 aminosavat tartalmaztak a szokásos kapcsolódási mód szerint, amely egy vagy több diszulfidot hídval kötött 17 aminosavból álló sort tartalmazott; amelyekben különféle amino- és karboxil-terminális csoportok kapcsolódtak a cisztein egységhez.

Azt találták, hogy az ANF peptidek különféle kötési helyekhez kötődnek különféle szövetekben, mint például a vesében, a mellékvese, az aorta, és az ér simaizom szövetben, amely kötődés körülbelül 50 pikomól (pM) – körülbelül 500 nanomól (nM) közötti (Needleman, Hypertension, 7, 469 /1985/). Ezen túlmenően úgy vélik, hogy az ANF specifikus receptorokhoz kötődik az agyban és valószínűleg neuromodulátorként és közönséges perifériás hormonként is hat.

Az ANF biológiai sajátosságai közé tartozik, hogy potenciális diuretikus (nátriuretikus és értágító) vérnyomáscsökkentő hatással, valamint renin és aldoszteron enzim kiválasztást inhibáló hatással rendelkezik (de Bold, Science, 230, 767 /1985/).

Ennélfogva feltehető, hogy az ANF és az ANF analógok biológiai aktivitása hatásos kezelést biztosít olyan betegek esetében, amelyek folyadék, elektrolit, vérnyomás, intraocularis, renin, vagy aldoszteron homeostasis rendellenességben szenvednek, amely betegségek, nem teljes körben ismertek, lehetnek például a magas vérnyomás, a vesebetegségek, a hyperaldoszterosis kiválasztás, a szívnagyobbodás, a zöldhályog és a pangásos szívbetegség.

Patkány pitvari szövetéből 28 aminosav egységből álló ANF fragmenst izoláltak, amely az alábbi szekvenciával rendelkezik:

H-Ser<sub>1</sub>-Leu-Arg-Arg-Ser<sub>3</sub>-Ser-Cys-Phe-Gly-Gly<sub>10</sub>

Ser-Gln-Ala-Gly-Ile<sub>15</sub>-Arg-Asp-Ile-Arg

Gly<sub>20</sub>-Leu-Gly-Cys-Asn-Ser<sub>25</sub>-Phe-Arg-Tyr-OH,

ahol a Ser<sub>1</sub> aminosav a terminális amino-egységet, a Tyr<sub>28</sub> pedig a terminális karboxil-egységet jelenti, és az egyes aminosavak sorrendi számukkal jelöltek az amino-védőcsoporttól kezdődően a karboxil-végcsoport felfelé haladva. Ezt a peptidet rANF<sub>1-28</sub> jellel jelölik. Megfelelő ha-

sonló biológiai aktivitással rendelkező peptid fragmenst izoláltak humán pitvari szövetből, amely a rANF<sub>1-28</sub>-tól csak abban tér el, hogy a 12. helyzetű "Ile" egységet "Met" egység helyettesíti (Needleman és munkatársai, Hypertension 7, 469 /1985/). Ezt az emberi ANF peptidet hANF<sub>1-28</sub> névvel jelöljük.

A találmány szerzői felfedeztek bizonyos új vegyületeket, amelyek hatásosan kötődnek az ANF receptorokhoz és ANF-szerű biológiai hatással rendelkeznek. Feltehető, hogy ezek az anyagok hatásosan alkalmazhatók folyadék, elektrolit, vérnyomás, intraocularis nyomás, renin vagy aldoszteron homeostasis rendellenesség következtében előálló betegségben szenvedő betegek kezelésére.

Részletesebben a találmány tárgya eljárás olyan (1) általános képletű vegyület előállítására, ahol az általános képletben

R<sub>1</sub> jelentése H-Ser-Ser-NH-csoport,

X<sub>1</sub> és X<sub>3</sub> jelentése metilencsoport,

A<sub>8</sub> jelentése Phe,

A<sub>9</sub> jelentése Gly,

A<sub>10</sub> jelentése Gly,

A<sub>11</sub> jelentése Arg,

A<sub>12</sub> jelentése Ile,

A<sub>13</sub> jelentése Asp,

A<sub>14</sub> jelentése Arg,

A<sub>15</sub> jelentése Ile,

A<sub>16</sub> jelentése Gly,

A<sub>17</sub> jelentése Ala,

A<sub>18</sub> jelentése Gln,

A<sub>19</sub> jelentése Ser,

A<sub>20</sub> jelentése Gly,

A<sub>21</sub> jelentése Leu,

A<sub>22</sub> jelentése Gly,

A<sub>24</sub> jelentése Asn,

A<sub>25</sub> jelentése Ser,

A<sub>26</sub> jelentése Phe,

A<sub>27</sub> jelentése Arg,

A<sub>28</sub> jelentése Tyr,

Y jelentése -NH<sub>2</sub>, ahol az -A<sub>8</sub>-A<sub>9</sub>-A<sub>10</sub>-, -A<sub>15</sub>-

-A<sub>16</sub>-A<sub>17</sub>-, -A<sub>16</sub>-A<sub>17</sub>-A<sub>18</sub>-, -A<sub>17</sub>-A<sub>18</sub>-A<sub>19</sub>-, -A<sub>20</sub>-

-A<sub>21</sub>-A<sub>22</sub>- vagy az -A<sub>24</sub>-A<sub>25</sub>-A<sub>26</sub>-csoport közül

valamelyik, vagy az -A<sub>8</sub>-A<sub>9</sub>-A<sub>10</sub>-, -A<sub>17</sub>-A<sub>18</sub>-A<sub>19</sub>-, -

-A<sub>20</sub>-A<sub>21</sub>-A<sub>22</sub>-, -A<sub>24</sub>-A<sub>25</sub>-A<sub>26</sub>-csoportok egy két-

vegyértékű (41) általános képletű csoporttal van-

nak helyettesítve, ahol Z jelentése 5-9 szénatom-

számu alkilén-csoport.

A találmány szerinti eljárással előállított ható-

anyagot tartalmazó gyógyszerkészítmény olyan

betegségben szenvedő betegek kezelésére alkal-

mas, amely folyadék, elektrolit, vérnyomás, intra-

ocularis nyomás, renin vagy aldoszteron homeos-

tatis rendellenesség következménye, és amely le-

het például magas vérnyomás, vesebetegség, hi-

peraldosteronémia, szívnagyobbodás, glaucoma

és pangásos szívbetegség. A kezelés során a be-

tegek a találmány szerinti eljárással előállított

(1) általános képletű vegyület hatásos mennyisé-

gét adagoljuk. A fenti betegségben szenvedő be-

tegek a kezelés során az (1) általános képletű

vegyületet orálisan vagy parenterálisan adagol-

hatjuk bármely módon, amely alkalmas a hatásos

mennyiség bevezetésére. Általában a parenterá-

lis adagolás előnyös, amely lehet például szubkután, intramuszkuláris, intravénás, transzdermális, intranazális, rektális és hasonló adagolás.

A találmány tárgya továbbá eljárás gyógyszerkészítmény előállítására, amely alkalmas az (1) általános képletű vegyület adagolására. A találmány szerinti formált alakok egy vagy több (1) általános képletű vegyület hatásos mennyiségét és gyógyszerészetileg elfogadható hordozóanyagokat tartalmaznak.

A találmány szerinti eljárás leírásában az alábbi aminosav rövidítéseket alkalmazzuk:

Ala — alanin,  
Asn — aszparagin,  
Asp — aszparagin sav,  
Arg — arginin,  
Gln — glutamin,  
Gly — glicin,  
Ile — izoleucin,  
Leu — leucin,  
Met — metionin,  
Phe — fenilalanin,  
Ser — szerin,  
Tyr — tirozin,  
Aoa — amino-oktánsav távtartó csoport.

A fenti leírás során megadott bármely aminosav maradék a peptid molekulában minden esetben kétvegyértékű aminosavmaradékot jelent. Például a Gly rövidítés alatt a (42) képletű kétvegyértékű gyököt értjük.

A fent felsorolt aminosavak a glicin kivételével optikailag aktív csoportot jelentenek, mivel α-szénatomjuk aszimmetrikus. A természetesen előforduló aminosavak L-konfigurációjúak. A találmány szerinti leírásba beleértendő, hogy az aminosavat a természetes L-konfigurációban értjük, ha csak a speciális D-konfigurációt külön nem jelezzük. Például az alkalmazott Ser rövidítés a szerin L-konfigurációját jelenti.

Mint ahogy ez a szakirodalomban a peptidek szerkezetével kapcsolatosan általánosan alkalmazott az amino-terminális csoportot a bal oldalon és a karboxil terminális csoportot a jobb oldalon tüntetjük fel. Amennyiben másképpen nem jelöljük, a megadott peptidek a megfelelő aminosavakból épülnek fel, amelyek szokásos peptid kötésekkel kapcsolódnak egymáshoz, amint ez a szakirodalomban ismeretes.

Az (1) általános képletű vegyületekben az A<sub>8</sub>–10, A<sub>15</sub>–17, A<sub>16</sub>–18, A<sub>17</sub>–19, A<sub>20</sub>–22 és A<sub>24</sub>

–26-ként jelölt aminosav egységek közül egyet vagy többet kétvegyértékű (41) általános képletű csoporttal helyettesítünk, ahol az általános képletben Z jelentése 5–9 szénatomszámú alkilén-csoport.

A fent megadott kétvegyértékű csoportok, amelyeket mint "távtartó" csoportokat alkalmazunk, aminocsoporttal szubsztituált karbonsavak és az (1) általános képletű vegyületekbe szokásos peptid kötésekkel vannak beépítve. Általában előnyös, hogy egy aminosav egységet vagy szomszédos aminosav egység csoportot olyan távtartó egységgel helyettesítsünk, amelynek az N- és karboxilcsoport végcsoportok közötti hossza körülbelül egyezik a helyettesített aminosav vagy szomszédos aminosav csoport terminális alfa-N-csoportja és alfa-karboxil-csoportja közötti távolsággal. Így fenntartható a körülbelül térbeni távolság azok között az aminosavak között, amelyeket nem helyettesíthetünk. Például előnyösen három szomszédos aminosav egység helyettesítésére a 7-amino-heptánsav vagy 8-amino-oktánsav kétvegyértékű csoportja alkalmas.

Felidélezzük, hogy a szóbanforgó vegyület bizonyos részeiben az aminosav maradékok jelenléte előfeltétele annak, hogy a vegyület az ANF receptorokhoz kötődjön. Ugyanis vizsgálataink során azt találtuk, hogy az (1) képletű vegyület körülbelül A<sub>11</sub>–A<sub>15</sub> aminosav egységei és az A<sub>27</sub> egység segíti elő a vegyület ANF receptorhoz való kötődését.

Az 1. táblázatban megadunk néhány előnyösen alkalmazható (1) általános képletű vegyületet, bár ezek nem jelentik az előnyös vegyületek kizárólagos körét.

#### 1. táblázat

Aoa jelentése 8-amino-oktánsav,  
ANF jelentése rANF vagy hANF.

Az "Alap szerkezet" azt jelzi, hogy ezek az (1) általános képletű vegyületek azonos aminosavakból épülnek fel az rANF és hANF vegyületekkel a megadott pozíciókban. Például az "ANF<sub>8,10–28</sub>" azt jelenti, hogy a vegyület ugyanazon aminosavakból épül fel, mint amíg az rANF vagy hANF A<sub>8</sub>, A<sub>10</sub>–A<sub>28</sub> helyzetére megadottak. Az R<sub>1</sub> csoport jelentését a táblázatban külön közöljük. A távtartó csoportokat jelöljük és helyzetüket felső index segítségével adjuk meg. Például az "Aoa<sup>17–19, 20–22</sup>" jelölés azt jelenti, hogy a vegyület két 8-amino-oktánsav egységet tartalmaz az A<sub>17</sub>–A<sub>19</sub> és az A<sub>20</sub>–A<sub>22</sub> helyzetek között.

Vegyület száma	Alap szerkezet	R <sub>1</sub>	Távtartó csoport
1a.	ANF <sub>11–28</sub>	H-Ser-Ser-NH-	Aoa <sup>8–10</sup>
2.	ANF <sub>8,10–28</sub>	H-Ser-Ser-NH-	Aoa <sup>9–11</sup>
3.	ANF <sub>8–14,18–28</sub>	H-Ser-Ser-NH-	Aoa <sup>15–17</sup>
4.	ANF <sub>8–15,19–28</sub>	H-Ser-Ser-NH-	Aoa <sup>16–18</sup>
5.	ANF <sub>8–16,20–28</sub>	H-Ser-Ser-NH-	Aoa <sup>17–19</sup>
6.	ANF <sub>18–19,23–28</sub>	H-Ser-Ser-NH-	Aoa <sup>20–22</sup>
7.	ANF <sub>8–23,27–28</sub>	H-Ser-Ser-NH-	Aoa <sup>24–26</sup>
8.	ANF <sub>8–16,23–28</sub>	H-Ser-Ser-NH-	Aoa <sup>17–19,20–22</sup>

A találmány szerinti vegyületek számos a szakember előtt ismert eljárással előállíthatók. Ilyen eljárás az oltalmazni kívánt szilárdfázisú szekvenciális és blokk szintézis. A szilárdfázisú szekvenciális eljárást automatikus peptid szintetizátor alkalmazásával hajthatjuk végre. Ebben az eljárásban az aminosoponton védett aminosavat a karboxil-végcsoportja révén a gyantához kötjük, ezután az aminosavról a peptid kötés létrehozására kijelölt aminosoponton védőcsoportot eltávolítjuk és a kívánt szekvencia következő aminosoponton védett aminosav egységét hozzákapcsoljuk egy peptid kötés létrehozásával. A védőcsoport eltávolítást és a kapcsolást addig ismétljük, amíg a kívánt polipeptidet nem kapjuk termékkül. Az ilyen eljárással szintetizált találmány szerinti vegyületeket karboxil-csoportot tartalmazó végcsoportjukról kiindulva az aminosopontot tartalmazó végcsoportjuk felé haladva állítjuk elő. Az aminosoponton védett aminosav lehet egy szokásos aminosav, ennek származéka vagy izomerje, vagy egy távtartó csoport. Az alkalmazott gyanta hordozó lehet egy a szakirodalomban szilárdfázisú polipeptid szintézisben alkalmazott gyanta. Előnyösen alkalmazható gyanta a polisztirol gyanta, amely körülbelül 0,5 – körülbelül 3% keresztkötésű divinil-benzolt tartalmaz, amelyet benzhidril-amidáltak, klór-metil-esterek vagy hidroximetil-esterek és így amid vagy észter képzésre alkalmas aktív helyeket hoztak létre rajta, amelyek alkalmasak az első, aminosoponton védett aminosavval történő kötésre.

Egy ilyen hidroximetil-gyantát írt le Bodansky csoportja (Chem. Ind. /London/ 38, 1597–98 /1966/). Klórmetil-estert és benzhidril-amid gyan-  
ták előállítását írta le Stewart csoportja ("Solid Phase Peptide Synthesis", 2nd Edition, Pierce Chemical Co., Rockford, Illinois /1984/, Chapter 2, pp. 54–55). A peptid karboxil-terminális aminosoponton védett aminosav egységét a gyantához a szokásosan alkalmazott standard eljárásokkal kapcsolhatjuk. Például az aminosoponton védett aminosavat a gyantához kapcsolhatjuk Gisin eljárása szerint (Helv. Chem. Acta, 56, 1476 /1973/). Amennyiben kívánatosan benzhidril-amin egységet tartalmazó gyan-  
tát alkalmazunk az aminosoponton védett aminosav egység alfa-karbonsav egysége és a gyanta aminosoportja között létrejövő amidkötéssel van a gyantához kötve. Ezt a kötést a standard kapcsolási, alább közölt eljárásokkal hozhatjuk létre. Számos gyantához kötött aminosav kereskedelemben is kapható.

A polipeptid szekvenciába beépített egyes aminosavak alfa-aminocsoportján alkalmazott védőcsoport bármely a szakirodalomban ismert védőcsoport lehet. Az alkalmazható aminosopont védőcsoportot osztályok lehetnek: (1) acilcsoport (típusú védőcsoportok, mint például formil-csoport, trifluor-acetil-csoport, ftalil-csoport, p-toluol-szulfonil-csoport (tozilcsoport), benzol-szulfonil-csoport, nitro-fenil-szulfenil-csoport, tritil-szulfenil-csoport, o-nitro-fenoxi-acetil-csoport és alfa-klór-butiril-csoport; (2) aromás ur-  
tán típusú védőcsoportok, mint például benzil-

oxi-karbonil-csoport és szubsztituált benziloxi-karbonil-csoportok, mint például p-klór-benziloxi-karbonil-csoport, p-metoxi-benziloxi-karbonil-csoport, p-nitro-benziloxi-karbonil-csoport, p-bróm-benziloxi-karbonil-csoport, 1-(p-bifenil)-1-metil-etoxi-karbonil-csoport, alfa, alfa-dimetil-3,5-dimetoxi-benziloxi-karbonil-csoport és benzhidriloxi-karbonil-csoport; (3) alifás-  
-uretán típusú védőcsoportok, mint például t-butoxi-karbonil-csoport (Boc), diizopropil-metoxi-karbonil-csoport, izopropiloxi-karbonil-csoport, etoxi-karbonil-csoport és alliloxi-karbonil-csoport; (4) cikloalkil uretán típusú védőcsoportok, mint például ciklopentiloxi-karbonil-csoport, adamantiloxi-karbonil-csoport és ciklohexiloxi-karbonil-csoport; (5) tiouretán típusú védőcsoportok, mint például feniltio-karbonil-csoport; (6) alkil-típusú védőcsoportok, mint például trifenil-metil-csoport (tritil-csoport) és benzilcsoport (Bzl); (7) trialkil-szilil védőcsoportok, mint például trimezil-szilil-csoport. Előnyösen alkalmazható alfa-aminocsoport védőcsoport a t-butoxi-karbonil-csoport (Boc). A Boc csoport mint alfa-aminocsoport védőcsoport alkalmazását Bodansky és munkatársai a "The Practice of Peptide Synthesis", Springer-Verlag, Berlin /1984/ p. 20 közleményükben leírták.

Az aminosoponton védett aminosav gyantához való kötése után az alfa-aminocsoport védőcsoportot megfelelő eljárás alkalmazásával eltávolítjuk. Ilyen eljárás lehet például trifluor-ecetsav, trifluor-ecetsav és diklórmecetán elegye, vagy sósavas dioxán alkalmazása. A védőcsoport eltávolítását körülbelül 0 °C és szobahőmérséklet közötti hőmérsékleten végezzük. Más standard basztási reakciók is alkalmazhatók speciális aminosopont védőcsoportok eltávolítására a szakirodalomban ismert módszereknek megfelelően.

Miután az alfa-aminocsoport védőcsoportot eltávolítottuk a következő aminosoponton védett aminosavat kapcsoljuk a molekulához peptid kötés kialakításán keresztül. Ezt a védőcsoport eltávolítást és kapcsolási reakciót addig ismétljük, amíg a kívánt szekvenciájú polipeptidet nem kapjuk termékként. Más eljárás szerint több aminosavból álló csoportokat kapcsolhatunk össze oldatbani eljárással mielőtt azokat a gyantára felvitt aminosav szekvenciához kapcsoljuk.

A megfelelő kapcsoló reagensek kiválasztása a szakember számára ismert. Különösen alkalmas kapcsoló reagensek, amennyiben Gln, Asn vagy Arg aminosavakat kívánunk kapcsolni az N,N-diciklohexil-karbodiimid és az 1-hidroxi-benzotriazol. Ezen reagensek alkalmazása kiküszöböli a nitril és a laktám képződést. Más alkalmazható kapcsoló reagensek (1) a karbodiimidek (például az N,N-diciklohexil-karbodiimid, és az N-etil-N'-(gamma-dimetil-amino-propil)-karbodiimid); (2) a ciánamidok (például az N,N-dibenzil-ciánamid); (3) a keteniminek; (4) az izoxazólium sók (például az N-etil-5-fenil-izoxazólium-3-szulfonát); (5) monociklusos nitrogéntartalmú heterociklusos amidok, amelyek aromás jellegű-

ek és amelyek 1–4 nitrogénatomot tartalmazhatnak a gyűrűben, mint például az imidazolinok, a pirazolidok és az 1,2,4-triazolidok (például speciális előnyösen alkalmazható heterociklusos amidok az N,N-karbonil-diimidazol, és az N,N-karbonil-di-1,2,4-triazol); (6) alkoxilezett acetilének (például etoxi-acetilén); (7) olyan reagensek, amelyek az aminosav karboxilcsoportjával vegyes anhidridet képeznek (például az etil-klór-formiát és az izobutil-klór-formiát), vagy a kapcsolandó aminosav szimmetrikus anhidridje (például Boc-Ala-O-Ala-Boc); (8) nitrogéntartalmú heterociklusos vegyületek, amelyek a gyűrű nitrogénatomján hidroxilcsoportot tartalmaznak (például N-hidroxifalimid, N-hidroxiszukcinimid és 1-hidroxibenzotriazol). Más aktiváló reagenseket és alkalmazásukat írta le Kapoor (J. Phar. Sci., 59, 1–27/1970) közleményében. A találmány szerinti eljárásban előnyösen alkalmazott aminosav kapcsolási eljárás a kapcsolandó aminosav szimmetrikus anhidridjének kapcsoló ágensként való alkalmazása.

A Glu, Asn és Arg esetében az előnyös kapcsolási eljárás során a védett aminosavat vagy származékait vagy izomerjeit 1:1 arányú N,N-diciklohexil-karbodilimiddel és 1-hidroxibenzotriazollal reagáltatjuk N,N-dimetil-formamidban a gyanta vagy a gyantához kötött aminosav vagy peptid jelenlétében. Az egyéb aminosavak és tartartó csoportok esetében alkalmazott előnyös kapcsolási eljárás során a védett aminosavat, vagy származékát vagy izomerjét N,N-diciklohexil-karbodilimiddel reagáltatjuk diklórmétánban és a szimmetrikus anhidridet állítjuk elő. Ezután a szimmetrikus anhidridet a gyantát vagy a gyantához kötött aminosavat vagy peptidet tartalmazó szilárd fázisú reaktorba visszük és a kapcsolást dimetilformamidban, diklórmétánban vagy dimetilformamid-diklórmétán 1:1 arányú elegyében hajtjuk végre. A kapcsolási reakció megtörténtét minden egyes szintézis lépésben ninhidrid teszvizsgálattal ellenőrizzük Kaiser és munkatársai (Analyt. Biochem. 34, 595/1970) közleményében leírt eljárása szerint. Amennyiben nem teljes kapcsolat zajlott le a kapcsolási eljárást megismételjük. Amennyiben a kapcsolat még mindig nem teljes, a védőcsoport nélküli aminosavat blokkoló csoporttal látjuk el, hogy megakadályozzuk további szintézisben való részvételét. Ilyen speciális blokkoló reagensek a szakember előtt ismertek. Alkalmazható blokkoló védőcsoport reagensek például az ecetsavanhidrid és az acetil-imidazol, amint ezt Stewart és munkatársai ("Solid Phase Peptide Synthesis", 2nd Ed., Pierce Chemical Co., Rockford, Ill./1984, Chapter 2, p.73) közleményükben leírták.

Miután a kívánt aminosav szekvenciát előállítottuk a peptidet a gyantáról lebasztjuk. Ezt a műveletet a szakirodalomban ismert eljárásokkal végeztetjük, például a gyantához kötő észter vagy amid kötést hidrolizáljuk. A benzhidril-amin gyantáról a peptidet előnyösen dimetil-szulfid, p-krezol, tiokrezol vagy anizol vízmentes hidrogénfluoridban készült oldatával basztatjuk le. A basztási reakciót előnyösen körülbe-

lül 0 °C körülbelül szobahőmérséklet közötti hőmérsékleten hajtjuk végre. A reakciót előnyösen körülbelül 5 perc – körülbelül 5 óra időtartamig végezzük.

Mint ez a szilárd fázisú peptid szintézissel kapcsolatosan, a szakirodalomban ismert, számos kapcsolt aminosav oldalláncban funkciócsoportokat tartalmaz, amelyek a peptid előállításánál védőcsoport bevezetését igénylik. Az ilyen oldallánc funkciócsoportok megfelelő védőcsoportjainak kiválasztása és alkalmazása a szakember előtt ismert és függ a védőcsoporttal ellátandó aminosav, valamint a peptidben egyébként jelenlevő aminosavak jelenlevő védőcsoportjainak minőségétől. Az ilyen oldallánc funkciócsoport védőcsoport kiválasztása döntő befolyású, ugyanis ez a peptid szintézis védőcsoport eltávolítási reakcióiban és kapcsolási reakcióiban stabil kell hogy maradjon. Például amennyiben alfa-aminocsoport védőcsoportként Boc csoportot alkalmazunk, az oldallánc védőcsoportok az alábbiak lehetnek: a Lys és Arg esetében például az oldallánc aminocsoportját p-toluol-szulfonil-csoporttal védhetjük; az oldalláncban tiolcsoportot tartalmazó aminosavak, mint például cisztein, homocisztein, penicillinamin és hasonlóak vagy származékaik esetében az oldallánc szulfid-csoportjának védelmére p-metil-benzil-csoport, acetamidometil-csoport, benzilcsoport (Bzl), vagy t-butil-szulfonil-csoport alkalmazható; a karboxilcsoportot oldalláncban tartalmazó aminosavak mint például Asp, Glu esetében az oldalláncban karboxilcsoport védelmére benzilcsoport (Bzl) vagy ciklohexil-észter-csoport alkalmazható; az oldalláncban hidroxilcsoportot tartalmazó aminosavak, mint például Ser és Thr oldalláncban hidroxilcsoportjának védelmére benziléter (Bzl) származék alkalmazható; és az oldalláncban hidroxilcsoportot tartalmazó aminosav például a Tyr esetében az oldallánc hidroxilcsoportjának védelmére 2-bróm-karbobenzoxi-csoport (2Br-Z) alkalmazható. Ezeket az oldallánc funkciócsoport védőcsoportokat a szakirodalomban ismert szokásosan alkalmazott eljárásokkal vezetjük be és távolítjuk el a molekulából. Az oldallánc védőcsoportokat előnyösen anizol vízmentes hidrogénfluoridban (1:10) készült oldatának alkalmazásával távolítjuk el. Az oldallánc védőcsoportok eltávolítását jellemzően akkor végezzük, amikor a peptidlánc szintézise befejeződött, de más eljárás szerint ezek a védőcsoportok bármely más időpontban is eltávolíthatók. Ezeket a védőcsoportokat előnyösen akkor távolítjuk el, amikor a peptidet a gyantáról lebasztjuk.

Miután a peptidet a gyantáról eltávolítottuk a (49) általános képletű hidat a megfelelő oldalláncokat a szakirodalomban ismert standard eljárásokkal való kovalens kötéssel történő kapcsolásával hozzuk létre. Például az (50) diszulfid hidat a megfelelő szulfidok oxidációjával állíthatók elő, Stewart és munkatársai ("Solid Phase Peptide Synthesis", 2nd Ed., Pierce Chemical Co., Rockford, Ill., /1984, p. 95) közleményében leírt eljárása szerint.

A kívánt aminosavak, izomerjeik és a távtartó csoportokhoz alkalmazható amino-alkánsavak kereskedelemben kaphatók, vagy a szakirodalomban ismert eljárásokkal előállíthatók.

A találmány szerinti eljárást az alábbi példák részletesen bemutatjuk.

#### 1. példa

Az  $(Aoa^{24-26})rANF_5-23,27-28-NH_2$  vegyület előállítása

Az  $(Aoa^{24-26})rANF_5-28-NH_2$  vegyület az (56) képletű anyag, azaz olyan (1) általános képletű vegyület, ahol a képletben

$R_1$  jelentése  $H-Ser-Ser-NH_2$ ;

$X_1$  és  $X_2$  jelentése metilénecsopott;

$Aoa^{24-26}$  jelentése amino-oktánsav távtartó csoport a 24–26 helyen.

A vegyület alapszerkezete  $rANF_5-23,27-28$ .

A peptid szintézise standard szilárd-fázisú peptid szintézis eljárás alapján, amelyben automata peptid szintetizátor alkalmazunk (applied Biosystems, Inc.). A szintézisben szilárd hordozóként p-metil-benzhidril-amin gyantát alkalmazunk (2% divinil-benzol) (Peptides International). A szimmetrikus Tyr anhidridet, amelyen Boc alfa-aminocsoport védőcsoport és 2Br-Z oldallánc hidroxilcsoport védőcsoport található, a védőcsoporttal ellátott Tyr és N,N-diciklohexil-karbodiimid diklórmétánban végrehajtott reakciójával állítjuk elő. A diklórmétánt dimetilformamidra cseréljük. A védett Tyr aminosav gyantához való ötését a szimmetrikus anhidrid oldatának szilárd fázisú reaktorba történő bevitelével végezzük, amely a gyantát tartalmazza. Az elegyet addig keverjük, amíg a kapcsolás teljessé nem válik. Az anhidrid oldatot körülbelül kétszeres feleslegben alkalmazzuk. A Tyr alfa-aminocsoport védőcsoportját a gyantához kötött Tyr származékot trifluor-ecetsavval reagáltatva eltávolítjuk. Alfa-aminocsoport védőcsoportként Boc csoportot oldallánc aminocsoport védőcsoportként p-toluol-szulfonil-csoportot (toszil) tartalmazó Arg-t N,N-diciklohexil-karbodiimid/1-hidroxi-benzotriazol (1:1) elegyével és a gyantához kötött Tyr származékkal dimetilformamidban reagáltatjuk és a gyantához, kötött Tyr származékokhoz kapcsoljuk. Hasonló eljárás szerint a többi aminosavat is a gyantához kötött peptidhez kötjük a megfelelő – az alábbiakban részletezett sorrendben. Valamennyi aminosav Boc alfa-aminocsoport védőcsoportot tartalmaz. A fenti eljárás szerint járunk el a kapcsolás után a peptid N-végcsoportjáról való alfa-aminocsoport védőcsoport eltávolításában.

$Aoa^{24-26}$ ; Cys, amely az oldallánc tiolcsoportján p-metil-benzil-csoport védőcsoportot tartalmaz; Gly; Leu; Gly; ser, amely az oldallánc hidroxilcsoportján Bzl-éter védőcsoportot tartalmaz; Gln; Ala; Gly; Ile; Arg, amely az oldallánc aminocsoportján tozilcsoport védőcsoportot tartalmaz; Asp, amely az oldallánc karboxilcsoportján ciklohexil-észter védőcsoportot tartalmaz; Ile, Arg, amely az oldallánc aminocsoportján tozilcsoport védőcsoportot tartalmaz; Gly; Gly; Phe; Cys, amely az oldallánc tiolcsoportján p-

-metil-benzil-védőcsoportot tartalmaz; Ser, amely az oldallánc hidroxilcsoportján Bzl-éter védőcsoportot tartalmaz; Ser, amely az oldallánc hidroxilcsoportján Bzl-éter védőcsoportot tartalmaz.

Az Arg, Asn és Gln származékok gyantához kötött peptidhez való kapcsolása során diciklohexil-karbodiimid/1-hidroxi-benzotriazol (1:1) kapcsoló reagens alkalmazunk dimetilformamidban. Valamennyi egyéb aminosav esetében a szimmetrikus anhidrid előállítását diciklohexil-karbodiimiddal diklórmétánban végezzük.

A peptidet a gyantáról lehasítjuk és egyben az oldallánc védőcsoportokat eltávolítjuk a gyantához kötött peptidet anizol vízmentes hidrogénfluoridban készült (1:1) oldatával reagáltatva. A védőcsoport mentes peptidet káliumferricianid-dal oxidáljuk és diszulfid hidat hozunk létre. A peptidet géliszűrési kromatográfia, ioncserélő kromatográfia, dialízis, és reverz fázisú nagynyomású folyadékkromatográfia (HPLC) segítségével tisztítjuk.

Gyors atombombázású tömegspektrum (FAB-MS):

$(M+H)^+ = 2341$

Aminosav analízis (%): Asp (0,73); Glu (0,91); Ser (2,79); Gly (5,15); Ala (1,01); Arg (3,01); Tyr (0,98); Ile (1,95); Leu (0,97); Phe (0,93); Aoa (1,01). Kitermelés: 14,1 %.

Hasonló eljárás alkalmazásával az alábbi peptideket állítjuk elő:

$(Aoa^{8-10})rANF_5-7,11-28-NH_2$ ; kitermelés 4,2 %, FAB-MS:  $(M+H)^+ = 2427$ ; aminosav analízis (%): Asp (1,24); Glu (0,88); Ser (3,72); Gly (3,16); Ala (1,07); Arg (3,01); Tyr (0,95); Ile (1,95); Leu (0,94); Phe (0,98); Aoa (1,07).

$(Aoa^{17-19})rANF_5-16,20-28-NH_2$ ; kitermelés: 0,73 %, FAB-MS:  $(M+H)^+ = 2404$ ; aminosav analízis (%): Asp (1,31); Ser (2,88); Gly (5,18); Arg (2,95); Tyr (1,00); Ile (2,03); Leu (0,99); Phe (1,94); Aoa (0,70).

$(Aoa^{20-22})rANF_5-19,23-28-NH_2$ ; kitermelés: 0,45 %, FAB-MS:  $(M+H)^+ = 2462$ ; aminosav analízis (%): Asp (0,98); Ser (3,77); Asn (0,63); Gly (2,91); Glu (0,85); Arg (2,99); Tyr (1,02); Ile (2,33); Phe (2,20); Aoa (0,97).

$(Aoa^{15-17})rANF_5-14,18-28-NH_2$ ; kitermelés: 0,86 %, FAB-MS:  $(M+H)^+ = 2447$ ; aminosav analízis (%): Asp (1,77); Glu (0,96); Ser (3,62); Gly (4,21); Arg (2,91); Tyr (0,98); Ile (0,77); Leu (1,01); Phe (2,11); Cys (1,96); Aoa (0,80).

$(Aoa^{16-18})rANF_5-15,19-28-NH_2$ ; kitermelés: 1,8 %, FAB-MS:  $(M+H)^+ = 2433$ ; aminosav analízis (%): Asp (1,97); Ser (4,08); Gly (4,45); Arg (2,96); Tyr (0,95); Ile (1,124); Leu (0,96); Phe (1,92); Cys (1,46); Aoa (0,26).

$(Aoa^{9-10,17-19,20-22,24-26})rANF_5-7,11-16,23,27-28-NH_2$ ; FAB-MS:  $(M+H)^+ = 1988$ ; aminosav analízis (%): Asp (0,81); Ser (1,82); Gly (1,03); Arg (3,00); Tyr (0,96); Ile (1,74); Cys (1,94); Aoa (3,07). Kitermelés: 3,6 %.

Az (1) képletű vegyületeket tartalmazó gyógyszerkészítmények felhasználhatók olyan betegek kezelésére, amelyek betegsége túlzott folyadék,



elektrolit, vérnyomás, szemvíz nyomás, renin vagy aldosteron homeostasis következménye, és amelyek lehetnek például magas vérnyomás, vesebetegség, hiper aldosteronemia, szívnagyobbodás, glaukóma és pangásos szívbetege. A kezelés során a betegnek az (1) általános képletű vegyület terápiásan hatásos mennyiségét adjuk. A fentiekben beteg alatt melegvérű állatokat, mint például emlősöket értünk, amelyek a fenti betegségekben szenvednek. Az elnevezés körébe beleértendő például a kutyák, a macskák, a patkányok, az eger, a lovak, a szarvasmarhák, a juhok és az emberek. Terápiásan hatásos mennyiség az a mennyiség, amely egyszerre vagy többszöri dózis alkalmazása esetén kívánt terápiás hatást fejt ki és jelentősen megváltoztatja a folyadék, elektrolit, renin, aldosteron, szemvíz nyomás vagy vérnyomás abnormális értékeit a normális értékek felé olyan betegek esetében, amelyek ilyen szimptomával rendelkeznek.

A fent leírt betegségben szenvedő betegnek az (1) általános képletű vegyület a kezelés során bármely módon adagolható, amely a vegyületet biológiailag felvehető formában szolgáltatja. Az adagolás útja lehet orális és parenterális. Például az (1) általános képletű vegyületek adagolhatók orálisan, szubkután, intramuszkuláris, intravénás, transzdermális, intranazális, rektális és hasonló úton. Általában előnyösen parenterális adagolást alkalmazunk.

Az (1) általános képletű vegyület terápiásan hatásos mennyisége körülbelül 0,5 mikrog/kg testsúly/nap — körülbelül 50 millig/kg testsúly/nap érték lehet. Be kell érteni, hogy a terápiásan hatásos dózis, egyebek mellett számos, alábbi tényező függvénye: a kezelt emlős fajtája; a beteg mérete, kora és általános egészségi állapota; a kezelt speciális betegség fajtája; a betegség súlyossága; az adott beteg reakciója a kezelésre; az adagolt adott vegyület fajtája; az adagolás módja; az alkalmazott formált alak biológiai felvehetőségi jellemzői; a választott dózisrend; párhuzamos egyéb kezelés alkalmazása; és más egyedi körülmények. Az adott esetben alkalmazandó megfelelő dózis értékét szakember határozza meg, aki jártas analóg eredmények alapján a megfelelő dózis kiválasztásában. Ennélfogva a megadott dózisértékek csak illusztratív jellegűek és nem jelentik a találmány szerinti eljárás határértékeit.

A találmány tárgya továbbá eljárás gyógyszerészeti formált alak előállítására, amely alkalmas az (1) általános képletű vegyület betegeknek való adagolására. Az eljárás során egy vagy több (1) általános képletű vegyület terápiásan hatásos mennyiségét gyógyszerészetileg elfogadható hordozó és/vagy adalékanyagokkal gyógyszerkészítménnyé feldolgozzuk. A formált alakokat a szakirodalomban ismert standard eljárások alkalmazásával állíthatjuk elő. A találmány szerinti formálási eljárásban az (1) általános képletű vegyület általában hordozóanyaggal keverjük, hordozóanyaggal hígítjuk, hordozóanyagba foglaljuk, amely lehet kapszula, zacskó vagy más tartó. Az (1) általános képletű anyaghoz kevert vagy hígí-

tóanyagként alkalmazott gyógyszerészetileg elfogadható hordozóanyag(ok) lehetnek szilárd, fél-szilárd, vagy folyékony anyagok, amelyek az (1) általános képletű aktív hatóanyag számára hordozóanyagként, töltőanyagként vagy közegként szolgálnak. Így az előállított formált alak lehet tabletta, pirula, por, ostya, zacskó, elixír, emulzió, oldat, szirup, gél, aeroszol (szilárd vagy folyékony közegben), kenőcs, lágy és kemény zselatin kapszula, kúp, steril injektálható oldat és steril csomagolt por.

Néhány alkalmazható hordozóanyag, hígítóanyag, például a laktóz, dextróz, szaccharóz, szorbitol, annitol, keményítő, arab mézga, kalciumfoszfát, alginátok, kalciumszilikát, mikrokristályos cellulóz, polivinil-pirrolidon, cellulóz, tragakant, zselatin, szirup, metil-cellulóz, metil- és propil-hidroxibenzoátok, talkum, magnézium-sztearát, víz és ásványi olaj. A formált alakok továbbá tartalmazhatnak kenőanyagokat, nedvesítőanyagokat, emulzifikáló szereket, szuszpendálószerkeket, tartósító anyagokat, édesítőanyagokat, ízesítő anyagokat vagy színezőanyagokat. A találmány szerinti formált alakok lehetnek azonnali, fentartott, vagy késleltetett aktív (1) általános képletű anyag kibocsátású formák. Ezek előállítása a szakirodalomban ismert eljárással történhet.

Orális adagolás céljára az (1) általános képletű vegyületet hordozó és hígítóanyagokkal keverjük és tablettává préseljük vagy zselatin kapszulákba töltjük. A keveréket és más eljárás szerint folyadékokban, mint például 10%-os vizes glükóz oldatban, izotóniás sóoldatban, steril vízben, és hasonlóokban oldhatjuk és intravénásan vagy injekció formájában adagolhatjuk. Ilyen oldatok kívánt esetekben liofilizálhatók és steril ampullákban tárolhatók, majd a felhasználás időpontjában steril vízzel újra oldhatók és intramuszkuláris injekció formában alkalmazhatók.

A formált alakok előnyösen egységdózis formájúak, ahol minden egyes dózis körülbelül 5 mikrog — körülbelül 1000 mg, szokásosabban körülbelül 5 mikrog — körülbelül 100 mg egy vagy több (1) általános képletű aktív hatóanyagot és alkalmas gyógyszerészeti hordozóanyagot tartalmaz. Az "egységdózis" forma elnevezés alatt fizikailag elkülönülő formákat értünk, amelyek alkalmasak ember vagy más beteg számára történő adagolásra. Minden egység előre meghatározott mennyiségű (1) általános képletű aktív hatóanyagot tartalmaz, amely hatásos terápiás kezelés kifejtésére alkalmas mennyiségben egyetlen dózis formájában vagy többszöri adagolású dózis részenként alkalmazzuk.

A természetesen előforduló rANF<sub>1-28</sub> peptidről és fragmenseiről in vitro módszerekkel kimutatták, hogy megkötődnek az ANF-specifikus kötési helyein számos szövet membránjain. Például az érrendszeri simaizom sejtekhez, a vesekéreg sejtekhez és az agyszövethez kötődnek. Úgy vélik, hogy az ilyen aktív kötődési helyekbe való megkötődés legalábbis részben bemutatja azt a mechanizmust, ahol az ANF kifejti hatását in vivo körülmények között. Az (1) általános



képlett vegyületekről ugyancsak úgy vélik, hogy az ANF-specifikus receptorokhoz kötődnek. Az (1) általános képlett vegyület *in vitro* kötési affinitását az ANF-aktív kötési helyekhez egy adott szövetben standard receptor kötési gyakorlatot és eljárást alkalmazva lehet meghatározni a szakirodalomban ismert eljárások alkalmazásával. Például alkalmazható a Napier és munkatársai (Proc. Nat. Sci. Acad. Sci., USA, 81; 5496–50, 1984), és a Buck és munkatársai (Science, 226; 987–89, 1984) közleményében leírt eljárás. Például homogenizált szövet preparátumot különféle koncentrációjú (1) általános képlett vegyület és annyi jóddal ( $^{125}\text{I}$ ) jelzett rANF<sub>5-28</sub> jelenlétében inkubáljuk, amennyi rANF<sub>5-28</sub> körülbelül egyező a nagy affinitású specifikus ANF kötőhelyek disszociációs konstansával ( $K_D$ ). Különböző koncentrációk mellett mérhető, hogy az (1) általános képlett vegyület milyen mennyiségű  $^{125}\text{I}$ -rANF<sub>5-28</sub> vegyületet szorít ki az ANF-specifikus kötőhelyekről. Ezt az egyensúlyi helyzetben a szövethez megkötött maradó  $^{125}\text{I}$  mennyiség mérésével végezhetjük. Ezeknek az adatoknak alapján kiszámítható a  $K_1$  érték az (1) vegyületre az adott vizsgált szövetre vonatkozóan. Általában a  $K_1$  fordítottan arányos a vizsgált vegyület kötési helyhez való affinitásával. Azok az (1) általános képlett vegyületek, amelyek kisebb, mint 500 nM  $K_1$  értékkel rendelkeznek, bármely ANF-specifikus receptorra vonatkoztatva általában előnyösnek tekintendők. Azok az (1) általános képlett vegyületek, amelyek bármely ANF-specifikus receptor esetén kisebb, mint körülbelül 50 nM  $K_1$  értékkel rendelkeznek, a találmány szerint különösen előnyös vegyületek. Természetesen ebben beleértett, hogy a receptor megkötődési tesztvizsgálat eredménye számos tényező, mint például a tesztvizsgálati rendszer hőmérséklete, az alkalmazott pH, a vizsgált vegyület vizsgálati rendszerben való oldhatósága, az inkubálási idő, az alkalmazott  $^{125}\text{I}$ -ANF koncentráció, az alkalmazott természetes ANF peptid minősége, a tesztvizsgálat típusa, a szövetforrás és hasonló tényezők függvénye. Általában előnyösen a szakirodalomban leírt standard gyakorlatot és eljárást alkalmazó tesztvizsgálatokat alkalmazunk.

#### SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Eljárás az (1) általános képlett vegyület előállítására, ahol az általános képletben

Részletesebben a találmány tárgya eljárás olyan (1) általános képlett vegyület előállítására, ahol az általános képletben

$R_1$  jelentése H-Ser-Ser-NH-csoport,

$X_1$  és  $X_3$  jelentése metilencsoport,

$A_8$  jelentése Phe,

$A_9$  jelentése Gly,

$A_{10}$  jelentése Gly,

$A_{11}$  jelentése Arg,

$A_{12}$  jelentése Ile,

$A_{13}$  jelentése Asp,

$A_{14}$  jelentése Arg,

$A_{15}$  jelentése Ile,

$A_{16}$  jelentése Gly,

$A_{17}$  jelentése Ala,

$A_{18}$  jelentése Gln,

$A_{19}$  jelentése Ser,

$A_{20}$  jelentése Gly,

$A_{21}$  jelentése Leu,

$A_{22}$  jelentése Gly,

$A_{24}$  jelentése Asn,

$A_{25}$  jelentése Ser,

$A_{26}$  jelentése Phe,

$A_{27}$  jelentése Arg,

$A_{28}$  jelentése Tyr,

Y jelentése -NH<sub>2</sub>, ahol az -A<sub>8</sub>-A<sub>9</sub>-A<sub>10</sub>-, -A<sub>15</sub>-

-A<sub>16</sub>-A<sub>17</sub>-, A<sub>16</sub>-A<sub>17</sub>-A<sub>18</sub>-, -A<sub>17</sub>-A<sub>18</sub>-A<sub>19</sub>-, -A<sub>20</sub>-

-A<sub>21</sub>-A<sub>22</sub>- vagy az -A<sub>24</sub>-A<sub>25</sub>-A<sub>26</sub>-csoport közül

valamelyik, vagy az -A<sub>8</sub>-A<sub>9</sub>-A<sub>10</sub>-, -A<sub>17</sub>-A<sub>18</sub>-A<sub>19</sub>-,

-A<sub>20</sub>-A<sub>21</sub>-A<sub>22</sub>-, -A<sub>24</sub>-A<sub>25</sub>-A<sub>26</sub>-csoportok egy két-

vegyértékű (41) általános képlett csoporttal van-

nak helyettesítve, ahol Z jelentése 5-9 szénatom-

számú alkilén-csoport; *azzal jellemezve*, hogy

1) a megfelelő védett aminosavat hordozó

gyantához kapcsoljuk;

2) ezt követően a többi, védett aminosavat

kapcsoljuk a növekvő peptid lánc amino-végcso-

portjához, miközben az alfa-aminocsoport védő-

csoportját eltávolítjuk;

3) majd a peptidről a hordozó-gyantát és az

oldallánc védőcsoportokat lehasítjuk, majd

4) a lineáris peptidet oxidatív kapcsolásnak

vetjük alá.

(Elsőbbsége: 1987. 05. 21.)

2. Az 1. igénypont szerinti eljárás olyan (1) ál-

talános képlett vegyület előállítására, ahol az ál-

talános képletben A<sub>8</sub>–A<sub>22</sub>, A<sub>27</sub>, A<sub>28</sub>, R<sub>1</sub>, Y, X<sub>1</sub>

és X<sub>3</sub> jelentése az 1. igénypontban megadott, az

A<sub>24</sub>-A<sub>25</sub>-A<sub>26</sub>-csoport a kétvegyértékű amino-ok-

tánsav gyökkel van helyettesítve, *azzal jellemezve*,

hogy a megfelelő kiindulási anyagokat alkalmaz-

zuk.

(Elsőbbsége: 1987. 05. 21.)

3. Az 1. igénypont szerinti eljárás olyan (1) ál-

talános képlett vegyület előállítására, ahol az ál-

talános képletben A<sub>11</sub>–A<sub>28</sub>, R<sub>1</sub>, Y, X<sub>1</sub> és X<sub>3</sub> je-

lentése az 1. igénypontban megadott, az A<sub>8</sub>-A<sub>9</sub>-

-A<sub>10</sub>-csoport a kétvegyértékű amino-oktánsav

gyökkel van helyettesítve, *azzal jellemezve*, hogy a

megfelelő kiindulási anyagokat alkalmaz-

zuk.

(Elsőbbsége: 1987. 05. 21.)

4. Az 1. igénypont szerinti eljárás olyan (1) ál-

talános képlett vegyület előállítására, ahol az ál-

talános képletben A<sub>8</sub>–A<sub>16</sub>, A<sub>20</sub>–A<sub>28</sub>, R<sub>1</sub>, Y, X<sub>1</sub>

és X<sub>3</sub> jelentése az 1. igénypontban megadott, az

A<sub>17</sub>-A<sub>18</sub>-A<sub>19</sub>-csoport a kétvegyértékű amino-ok-

tánsav gyökkel van helyettesítve, *azzal jellemezve*,

hogy a megfelelő kiindulási anyagokat alkalmaz-

zuk.

(Elsőbbsége: 1987. 05. 21.)

5. Az 1. igénypont szerinti eljárás olyan (1) ál-

talános képlett vegyület előállítására, ahol az ál-

talános képletben A<sub>8</sub>–A<sub>19</sub>, A<sub>24</sub>–A<sub>28</sub>, R<sub>1</sub>, Y, X<sub>1</sub>

és X<sub>3</sub> jelentése az 1. igénypontban megadott, az

A<sub>20</sub>-A<sub>21</sub>-A<sub>22</sub>-csoport a kétvegyértékű amino-ok-

tánsav gyökkel van helyettesítve, *azzal jellemezve*,

hogy a megfelelő kiindulási anyagokat alkalmaz-

zuk.

(Elsőbbsége: 1987. 05. 21.)

6. Az 1. igénypont szerinti eljárás olyan (1) általános képletű vegyület előállítására, ahol az általános képletben  $A_8 - A_{14}$ ,  $A_{18} - A_{28}$ ,  $R_1$ ,  $Y$ ,  $X_1$  és  $X_3$  jelentése az 1. igénypontban megadott, az  $A_{15} - A_{16} - A_{17}$ -csoport a kétvegyértékű amino-oktánsav gyökkel van helyettesítve, *azzal jellemezve*, hogy a megfelelő kiindulási anyagokat alkalmazzuk.

(Elsőbbsége: 1987. 05. 21.)

7. Az 1. igénypont szerinti eljárás olyan (1) általános képletű vegyület előállítására, ahol az általános képletben  $A_8 - A_{15}$ ,  $A_{19} - A_{28}$ ,  $R_1$ ,  $Y$ ,  $X_1$  és  $X_3$  jelentése az 1. igénypontban megadott, az  $A_{17} - A_{17} - A_{18}$ -csoport a kétvegyértékű amino-oktánsav gyökkel van helyettesítve, *azzal jellemezve*, hogy a megfelelő kiindulási anyagokat alkalmazzuk.

(Elsőbbsége: 1987. 05. 21.)

8. Az 1. igénypont szerinti eljárás olyan (1) általános képletű vegyület előállítására, ahol az általános képletben  $A_{11} - A_{16}$ ,  $A_{27}$ ,  $A_{28}$ ,  $R_1$ ,  $Y$ ,  $X_1$  és  $X_3$  jelentése az 1. igénypontban megadott, az  $A_8 - A_9 - A_{10}$ , az  $A_{17} - A_{18} - A_{19}$ ,  $A_{20} - A_{21} - A_{22}$  és az  $A_{24} - A_{25} - A_{26}$ -csoport a kétvegyértékű amino-ok-

tánsav gyökkel van helyettesítve, *azzal jellemezve*, hogy a megfelelő kiindulási anyagokat alkalmazzuk.

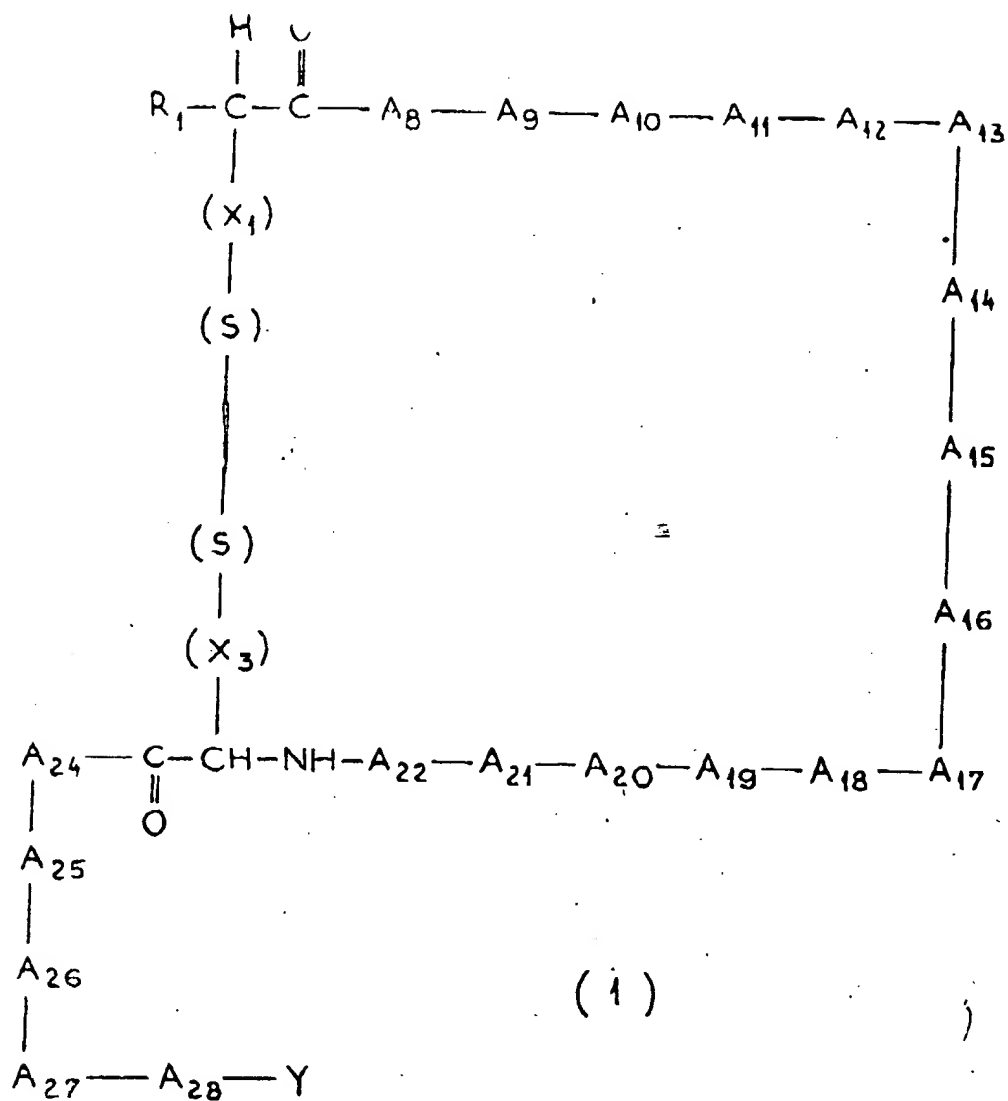
(Elsőbbsége: 1988. 02. 01.)

9. Eljárás gyógyszerkészítmény előállítására, *azzal jellemezve*, hogy az 1. igénypont szerinti eljárással előállított (1) általános képletű aktív hatóanyagot, ahol az általános képletben  $R_1$ ,  $Y$ ,  $X_1$ ,  $X_3$  és  $A_8 - A_{25}$  jelentése az 1. igénypontban megadott és ahol az  $-A_8 - A_9 - A_{10}$ ,  $-A_{15} - A_{16} - A_{17}$ ,  $A_{16} - A_{17} - A_{18}$ ,  $-A_{17} - A_{18} - A_{19}$ ,  $-A_{20} - A_{21} - A_{22}$  vagy az  $-A_{24} - A_{25} - A_{26}$ -csoport közül valamelyik, vagy az  $-A_8 - A_9 - A_{10}$ ,  $-A_{17} - A_{18} - A_{19}$ ,  $-A_{20} - A_{21} - A_{22}$ ,  $-A_{24} - A_{25} - A_{26}$ -csoportok egy kétvegyértékű (41) általános képletű csoporttal vannak helyettesítve, ahol  $Z$  jelentése 5-9 szénatomszámú alkilén-csoport, gyógyszerészetileg elfogadható vízfázisban oldható és adott esetben adalékanyagokkal összekeverve gyógyszerkészítménnyé feldolgozzuk.

(Elsőbbsége: 1987. 05. 21.)

10. A 9. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, a hogy gyógyszerkészítményben 10  $\mu$ g - 100 mg mennyiségű hatóanyagot alkalmazunk.

(Elsőbbsége: 1987.05.21.)



(1)

